



## **GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA**

### **TRABAJO FINAL DE GRADO**

---

# **ANÁLISIS IN VITRO DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS MINERALES EN EL ANTIGUO EGIPTO**

**AMANDA GARRIDO ARMENGOL**

MARISOL MARQUÉS CALVO  
DEPARTAMENTO DE ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

12 de junio, 2019



## GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

# ANÁLISIS IN VITRO DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS MINERALES EN EL ANTIGUO EGIPTO

## RESUMEN

Se sabe que en el Antiguo Egipto era común el uso de minerales y vegetales para tratar diversas patologías, tanto generales como de los ojos. Los minerales más citados en los papiros médicos que se conocen hasta el momento son la crisocola, la galena, el lapislázuli y la malaquita. La falta de investigación realizada sobre la veracidad de la metodología médica de los egipcios en cuanto al uso de estos minerales suscita el interés en el estudio de estos minerales y plantea si éstos eran realmente efectivos o no y si podrían tener propiedades antibacterianas a las que pudiéramos dar un uso útil hoy en día. En concreto, este estudio plantea si estos minerales podrían ser incluidos de alguna manera en soluciones de lentes de contacto y/o gotas oftálmicas.

Así bien, nuestro estudio se divide en dos grandes objetivos. Por una parte, encontrar bibliografía sobre las patologías que reconocían los egipcios y sus protocolos de tratamiento y por otra, investigar sobre las propiedades de los minerales que vamos a analizar. Una vez situados en el contexto histórico, pasaremos a hacer pruebas en el laboratorio tanto cualitativas como cuantitativas con los minerales indicados y dos especies bacterianas de distintas características para evaluar su actividad antimicrobiana in vitro y así determinar la posible utilidad de estos.

Con los resultados de nuestro estudio, si son satisfactorios tal y como esperamos, plantaremos posibles maneras de realizar una investigación más extensa sobre el tema y aportar así nuestro granito de arena a la comunidad científica con un tema que hasta ahora ha sido pasado por alto en el contexto indicado, aunque sí hay resultados parciales sobre el efecto de los minerales en el mundo microbiano.



## GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

# ANÁLISIS IN VITRO DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS MINERALES EN EL ANTIGUO EGIPTO

## RESUM

Es coneix que a l'Antic Egipte era comú l'ús de minerals i vegetals per tractar diverses patologies, tant generals com dels ulls. Els minerals més citats en els papirs mèdics que es coneixen fins el moment són la crisocol·la, la galena, el lapislàtzuli i la malaquita. La falta d'investigació realitzada sobre la fiabilitat de la metodologia mèdica dels egipcis en quant a la utilització d'aquests minerals suscita l'interès en l'estudi d'aquests minerals i planteja si aquests eren realment efectius o no i si podrien tenir propietats antibacterianes a les que poguéssim donar un ús útil avui dia. En concret, aquest estudi planteja si aquests minerals podrien ser inclosos d'alguna manera en solucions de lents de contacte i/o gotes oftàlmiques.

Així bé, el nostre estudi es divideix en dos grans objectius. D'una banda, trobar bibliografia sobre les patologies que reconeixien els egipcis i els seus protocols de tractament i d'altra, investigar sobre les propietats dels minerals que analitzarem. Una vegada situats en el context històric, passarem a realitzar proves al laboratori tant qualitatives com quantitatives amb els minerals indicats i dues espècies bacterianes de diferents característiques per avaluar la seva activitat antimicrobiana *in vitro* i així determinar la possible utilitat d'aquests.

Amb els resultats del nostre estudi, si son satisfactoris tal com esperem, plantejarem possibles maneres de realitzar una investigació més extensa sobre el tema i aportar així el nostre granet de sorra a la comunitat científica amb un tema que fins ara ha estat passat per alt en el context indicat, tot i que existeixen resultats parcials sobre l'efecte dels minerals en el món microbià.



## GRADO EN ÓPTICA Y OPTOMETRÍA

# ANÁLISIS IN VITRO DE LA EFICACIA ANTIMICROBIANA DE LOS MINERALES EN EL ANTIGUO EGIPTO

## SUMMARY

It's well known that in Antient Egypt minerals and vegetables were commonly used for treating diverse pathologies, not just the general ones but also the specific, like in the eyes. The most cited minerals in the Medical papyrus known at the moment were chrysocolla, galena, lapis lazuli and malachite. The lack of investigation done about the veracity of their medical methodology raises an interest in the study of this minerals and makes us wonder if those were really effective or not and if they could have antibacterial properties that could be useful nowadays. Specifically, this study poses if these minerals could be included in some way in the composition of contact lenses solutions and/or ophthalmic drops.

Our study has two big objectives. On the one hand, finding bibliography about the pathologies recognize and their treatment protocols, on the other hand, investigate about the properties of the minerals we're going to analyze. Once located in the historical context, we'll begin with the lab tests, qualitative and quantitative with the minerals and the bacterial species with different characteristics to evaluate their *in vitro* antibacterial activity and so determine their supposed utility.

With our study results, if they're satisfactory as we expect, we pose diverse ways to develop a way more extensive investigation about the topic and to make our contribution to the scientific community about something that until now has been acknowledged in the correct context, even though there are some partial results about the effect of these minerals in the bacterial world.

## ÍNDICE

1. Presentación y motivaciones del trabajo.....	7
2. Objetivos e hipótesis.....	8
2.1. Objetivos.....	8
2.2. Hipótesis.....	8
3. Fundamentos teóricos.....	9
3.1. Medicina en el Antiguo Egipto.....	9
3.2. El ojo y sus patologías en el Antiguo Egipto.....	9
3.3. Papiros médicos.....	10
3.3.1. Papiro de Ebers.....	10
3.3.2. Papiro de Edwin-Smith.....	13
3.4. Minerales.....	15
3.4.1. Crisocola.....	15
3.4.2. Galena.....	16
3.4.3. Malaquita.....	16
3.4.4. Lapislázuli.....	18
3.5. Bacterias.....	19
3.5.1. Gram +.....	19
3.5.2. Gram -.....	19
4. Parte práctica.....	21
4.1. Cualitativa.....	21
4.1.1. Materiales y método.....	21
4.1.2. Resultados y discusión.....	23
4.2. Cuantitativa.....	24
4.2.1. Materiales y método.....	24
4.2.2. Resultados y discusión.....	26
5. Conclusiones.....	31
6. Bibliografía.....	32

## 1. PRESENTACIÓN Y MOTIVACIONES DEL TRABAJO

Este trabajo, ya de título poco usual para ser del Grado en Óptica y Optometría, se me presenta un buen día como la oportunidad de hacer algo distinto, de hacer algo nuevo y con ilusión (después de 4 largos años cursando una carrera muy focalizada y concreta en su vertiente más clínica).

Por eso, nada más ver el título en el listado de trabajos de fin de grado, la mayoría por no decir todos ellos, relacionados con temas puramente optométricos, envío la única solicitud que mandaré para que, con suerte, me lo asignen a mí.

Para mi suerte, Marisol, mi directora y tutora en este trabajo, me envía un correo cinco minutos después para quedar y explicarme el planteamiento del mismo. Es además un puntazo el hecho de que me recuerde de su asignatura de microbiología, ya que hay muchos alumnos en una clase muy grande y no debe ser fácil irlos recordando a todos uno por uno.

El día que quedamos hablamos sobre lo que espera cada una del trabajo y nuestras ideas encajan por ambas partes, y por lo tanto el trabajo es mío.

Empieza entonces lo que será (y finalmente es) días convertidos en semanas de pruebas y más pruebas de laboratorio, búsquedas bibliográficas sobre una cultura muy distinta a la nuestra y el desarrollo de una nueva metodología de trabajo que nos hace feliz poder llamar nuestra, dado que es la primera vez que se realiza un estudio de este tipo.

Esperamos pues, que entre estas páginas los lectores reaviven su interés por la historia, y que, con suerte, al igual que la mía al obtener este trabajo, descubran algo que aún no sabían y quién sabe, ¡quizás hasta puedan encontrar la inspiración para plantear nuevos estudios a partir de las preguntas que les suscite este!

## 2. OBJETIVOS E HIPÓTESIS

### 2.1. OBJETIVOS

- Conocer la cultura del Antiguo Egipto en cuanto a sus disciplinas médicas.
- Saber qué conocimientos tenían en esa época sobre enfermedades oculares y el tratamiento de las mismas.
- Valorar objetivamente su metodología midiendo empíricamente la eficacia de las materias primas que usaban en sus planes de tratamiento de enfermedades oculares, en concreto, los recursos minerales.
- Analizar la composición de estos y valorar su posible eficacia antimicrobiana en la actualidad.
- Motivar el estudio, si se confirma la actividad antimicrobiana de los minerales bajo análisis, de posibles formas de empleo de estos y su uso en la medicina ocular actual.

### 2.2. HIPÓTESIS

1. Los minerales con cobre presentan una actividad antimicrobiana superior al resto
2. La bacteria gram positiva es más susceptible al efecto de los minerales que la gram negativa
3. Algunos de los minerales que van a ser objeto de análisis y que presentan propiedades antimicrobianas que podrían ser usados en cierta medida en soluciones actuales de lentes de contacto, entre otras, como agentes bactericidas

## 3. FUNDAMENTOS TEÓRICOS

### 3.1. MEDICINA EN EL ANTIGUO EGIPTO

A menudo, magia y medicina iban de la mano para los antiguos egipcios. Esta civilización era extremadamente creyente en demonios causantes de diversas enfermedades e infecciones y a su vez en deidades que, siendo invocadas en rituales mágicos y en combinación con materias primas extraídas de sus tierras, tales como vegetales, minerales o bien alimentos, eran capaces de curar las mismas.<sup>1</sup> Aún y teniendo en cuenta lo inverosímil de esta metodología comparándola con la medicina actual, diversos estudios científicos han defendido que para los tiempos que corrían, estos usaban una medicina muy avanzada para su época.

Hoy en día, nos sorprende su extenso conocimiento sobre las distintas enfermedades aún presentes en el periodo actual, lo cual actúa como el motor principal de interés para la realización de este estudio.

### 3.2. EL OJO Y SUS PATOLOGÍAS EN EL ANTIGUO EGIPTO

Consideramos como objeto de nuestro estudio patologías concretas asociadas a los ojos y a sus anexos dada la relación con el Grado de Óptica y Optometría.

La mayoría de estas se encontraban descritas en el papiro de Ebers (1500 a.C.). Aunque la información era la mayor parte de veces escasa, otros restos arqueológicos encontrados con prescripciones médicas y otros papiros como el de Edwin-Smith (1550 a.C.), también con connotaciones oftalmológicas, han ayudado a concretar dicha información, así como la imaginación de los historiadores que los encontraron.<sup>2</sup>

Papiros	Datación aprox.	Contenidos
Kahun	1.820 a.C.	Ginecológico
Rameseum III, IV, V	1.700 a.C.	Ginecológico
Edwin-Smith	1.550 a.C.	Quirúrgico
Ebers	1.500 a.C.	Medicina general
Hearst	1.450 a.C.	Medicina general
Londres (BM10059)	1.300 a.C.	Mágico
Carlsberg VIII	1.300 a.C.	Ginecológico
Berlín	1.200 a.C.	Medicina general
Chester-Beatty VI	1.200 a.C.	Enfermedades rectales
Ashmolean Museum	300 a.C.	Medicina general
Brooklyn	300 a.C.	Mordeduras de ofidios
Londres y Leiden	250 d.C.	Medicina general y magia
Cocodrilópolis	150 d.C.	Medicina general

Figura 1. Cuadro cronológico de diversos papiros médicos del Antiguo Egipto.<sup>3</sup>



### 3.3. PAPIROS MÉDICOS

Los papiros médicos eran textos escritos en láminas donde los antiguos egipcios detallaban, mediante una determinada simbología, información sobre sus prácticas y conocimientos sobre la medicina. En estos se describían diversas enfermedades, su diagnóstico, tratamiento e incluso, en los más avanzados, el seguimiento de estas. Como hemos referido antes, la mayoría de patologías e infecciones oculares sobre las cuales tenían conocimiento se encontraban en los papiros de Ebers (1500 a.C) y de Edwin-Smith (1550 a.C).



Figura 2. Fragmento del papiro de Edwin-Smith.<sup>4</sup>

#### 3.3.1. PAPIRO DE EBERS

El papiro de Ebers, actualmente expuesto en la universidad alemana de Leipzig, data aproximadamente del año 1534 a.C. (dinastía XVIII) cuando Amenhotep I reinaba sobre el Antiguo Egipto. En primer lugar, fue hallado en la tumba de una momia en Assasif, una necrópolis de la ciudad de Tebas cercana al río Nilo. El papiro pasó por distintos dueños hasta caer en las manos de un mercader egipcio, quién posteriormente lo vendió a Edwin-Smith sobre el año 1862, aunque no fue traducido hasta 10 años después por el reconocido egiptólogo alemán George Moritz Ebers a quien le debe su nombre.<sup>5</sup>

A fecha de hoy, es el papiro médico más extenso de todos los que se conocen. Contiene distintas disciplinas de la medicina egipcia ordenadas por temas tales como encantamientos y tratamientos para enfermedades dermatológicas, cardiovasculares, abdominales, dentales... y por supuesto oculares. También se describen la anatomía y fisiología del cuerpo humano, así como los procedimientos quirúrgicos a seguir en caso de enfermedad.<sup>6</sup>

En la siguiente tabla presentamos algunas de las patologías e infecciones oculares, así como sus signos y síntomas descritos por los egipcios en el papiro y su posible traducción en el presente.

CORRESPONDENCIA EGIPCIA	CORRESPONDENCIA ACTUAL
"Tjau"	Hiperemia
"Hati"	Cicatrices corneales o leucoma
"Nehat"	Tracoma (enfermedad causada por la conocida bacteria <i>Chlamydia trachomatis</i> hoy día aún presente en Egipto), el cual sabían que provocaba, secundariamente, triquiasis y en fases finales de la enfermedad, ceguera
"Keku"	Se traduce como oscuridad, y se relaciona con las cataratas
"Pedset"	Se traduce como bolita, lo cual podría ser un chalazión, una infección en las glándulas de Meibomio o un simple orzuelo
"Sehedju"	Pterigión o pinguécula
"Shepet"	Ceguera
"Djefdjef"	Lagrimo excesivo
"Techen"	Heridas en los ojos (suponemos por algún tipo de traumatismo)

Figura 3. Tabla con signos/síntomas y enfermedades descritas en el papiro de Ebers y su posible correspondencia actual<sup>2,4</sup>

En relación a los tratamientos descritos, se sabe que los médicos de los ojos, conocidos bajo el término "*sunu irty*" usaban remedios de origen animal, vegetal y mineral, siendo este último el que suscita interés para nuestro estudio. Con mezclas de estas materias primas creaban ungüentos que posteriormente aplicaban sobre las distintas heridas o infecciones (la mayoría de sus remedios eran vía tópica). Los egipcios también eran muy propensos a "prevenir antes que curar", y por lo tanto era común que los faraones usaran algunos de estos preparados con trazas de minerales que aportaran colores ostentosos a las mezclas para usar como maquillaje, sintiéndose así protegidos ante las posibles enfermedades que provocaban los demonios en los que creían.<sup>2</sup>

De entre todos los remedios citados de origen mineral, se mencionan la galena, el ocre, el lapislázuli, el natrón, la malaquita y otros que no se han podido identificar actualmente.<sup>4</sup>

De las enfermedades mencionadas anteriormente, en diversos capítulos del papiro de Ebers se describen los distintos encantamientos y rituales, así como los preparados empleados. Ejemplificamos algunos de ellos en la siguiente tabla:

PATOLOGÍA	TRATAMIENTO
<b><i>“Nehat” (tracoma)</i></b>	Usaban una mezcla de bilis de tortuga, láudano, ocre, granito, algarrobo, natrón y pintura negra (referida a la galena) <sup>1</sup> En cuanto a la triquiasis ocasionada por el tracoma, se menciona un preparado a base de sangre de lagartija y de murciélago con el uso de incienso
<b><i>“Sehedju” (pterigión o pingüecula)</i></b>	Se usaba bilis de tortuga batida con miel la cual se aplicaba, con la ayuda de compresas, sobre los párpados. También se nombran preparados que incluían el uso del mineral galena
<b><i>“Shepet” (ceguera)</i></b>	Usaban bilis de cerdo que introducían a través de los oídos ya que pensaban que estaban conectados con los ojos
<b><i>“Djefdjeft” (lagrimeo)</i></b>	Un ungüento mezcla del mineral lapislázuli y heces de cocodrilo
<b><i>“Techen” (heridas)</i></b>	Estas tenían un tratamiento que seguía un orden específico. El primer día se trataba con agua de marisma (mezcla de agua mar y dulce donde crecen determinadas plantas herbáceas); el segundo día se procedía a usar un ungüento con pintura negra (galena) o miel. Y si el tercer día la herida seguía supurando, empleaban otro ungüento con malaquita, incienso, y otros términos que no han llegado a ser traducidos ni correlacionados con elementos actuales <i>“iau”</i> y <i>“heden”</i> .

Figura 4. Tabla con algunas de las enfermedades de la Figura 3 y sus respectivos remedios.<sup>4</sup>

Es complicado estimar la efectividad de dichos tratamientos por la ausencia de información sobre el seguimiento de los mismos, además de que no sabemos en qué cantidades empleaban las materias primas o durante cuánto tiempo eran aplicados los ungüentos. Además, el hecho de que usaran la magia en sus prácticas médicas de forma lícita, nos hace, como mínimo, dudar de la legitimidad de sus métodos. Aún y así vemos que la medicina retratada en el papiro de Ebers planteaba un tratamiento físico a base de materiales que a día de hoy sabemos que pueden tener algún efecto benéfico sobre el cuerpo humano (como por ejemplo la miel). Por ese motivo, otros materiales que se nombran suscitan interés de estudio, en nuestro caso, los minerales que posteriormente van a ser objeto de nuestro análisis.

### 3.3.2. PAPIRO DE EDWIN-SMITH

El papiro de Edwin-Smith se halla actualmente en la Academia de Medicina de Nueva York, y ha sido temporalmente expuesto en el MET (Museo Metropolitano de Arte de Nueva York).<sup>5</sup> El papiro trata la medicina desde un punto de vista más quirúrgico si lo comparamos con el de Ebers. Quién adquirió y dotó de nombre al famoso papiro fue Edwin-Smith (1822-1906), que desde muy joven mostró interés en la egiptología, lo cual lo llevó a mudarse de Connecticut a Luxor, una ciudad egipcia construida sobre la antigua Tebas. En 1862 fue cuando un mercader le vendió el papiro. No se sabe si llegó a traducirlo, pero sí sabemos que nunca lo publicó. Fue tras su muerte pues, que su hija lo donó a la Sociedad de Historia de Nueva York, y más tarde pasó a ser traducido por dos profesores de universidades estadounidenses de prestigio. Aunque el papiro data del año 1550 a.C. aproximadamente, se cree que es la copia de un papiro mucho anterior. James Henry Breasted (1865-1953), quién encabezó la traducción, hipotetizó que Imhotep (2600 a.C.) habría sido el autor del mismo, quien fue un arquitecto, médico, sacerdote, científico y reconocido escriba de sus tiempos. Aún y así, el hecho de que este papiro en concreto carezca de encantamientos, rituales y hechizos hace rechazar esta idea, dado el decante religioso de este personaje.<sup>4</sup>



Figura 5. James Henry Breasted junto a unos yacimientos egipcios en Megiddo, Israel.<sup>7</sup>

En el papiro se recogen un total de 48 casos ordenados según la ubicación de la lesión en el cuerpo, y a su vez las lesiones están ordenadas de manera creciente por gravedad. La información en cada uno de los 48 casos estaba estructurada de la forma siguiente:

<b>TÍTULO</b>
Ubica la zona a tratar y describe la zona de afección
<b>EXAMEN</b>
Se realizaba una anamnesis para saber los síntomas del paciente y después una serie de observaciones y/o palpaciones para apreciar los signos de la enfermedad
<b>DIAGNÓSTICO</b>
Intenta clasificar la enfermedad o relacionarla con enfermedades anteriores con las que ya haya tratado
<b>TRATAMIENTO</b>
En este caso, pasaba a describir las distintas cirugías que se practicaban acompañadas de los remedios o medicamentos que usaban

Figura 6. Tabla representativa del esquema descrito en el papiro de Edwin-Smith para el diagnóstico y tratamiento de enfermedades.<sup>4</sup>

En este papiro ya estaban descritas las suturas quirúrgicas y el uso de algunos analgésicos y antibióticos, así como el proceso de cauterización. Además, se planteaban alternativas a los tratamientos, siendo estos a) exclusivamente quirúrgicos, b) exclusivamente farmacológicos o bien c) una combinación de ambos. Y, por último, también destacamos que se realizaba un seguimiento de estos planes de tratamiento para evaluar la recuperación de los individuos.<sup>6</sup>

Este papiro, a nuestro parecer, muestra grandes avances respecto al de Ebers, dado que deja atrás en gran medida las prácticas mágico-religiosas y se centra en crear un examen estructurado por partes coherentes, además de ofrecer unas técnicas de evaluación, así como de tratamiento regidas por la racionalidad y la lógica. A partir de esto, nos genera un gran interés el estudio del resto de sus prácticas y poder comprobar nosotros mismos si el resto de su metodología era de real utilidad y si podría aplicarse hoy en día.



### 3.4. MINERALES

Seguidamente pasaremos a detallar información sobre los minerales objeto de nuestro estudio. Trataremos la galena, la crisocola, el lapislázuli y la malaquita dada su recurrente aparición en los papiros médicos analizados como elementos base para los distintos ungüentos en los tratamientos practicados. Esta información comprenderá la descripción, localización y connotaciones históricas de cada uno de ellos, así como el planteamiento sobre su posible actividad antimicrobiana teniendo en cuenta los elementos químicos de su composición y el conocimiento actual de estos.

#### 3.4.1. CRISOCOLA

Se le nombra crisocola dados los términos griegos “chrysos” para el oro y “kolla” para el pegamento, ya que muchos de los elementos de su composición eran útiles para soldar oro. Su color azul turquesa y su estructura cristalina se dan gracias al cobre y los hidro silicatos que lo componen, siendo su composición química  $\text{Cu}^{2-x}\text{Al}^x(\text{H}^{2-x}\text{Si}^2\text{O}^5)(\text{OH})^4 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ .

Allá por el año 4000 a.C., los antiguos egipcios ya realizaban exploraciones minerales a lo largo de todo su extenso territorio y se han reportado hallazgos de crisocola en varias minas situadas a lo largo de Sinaí y el desierto del este de Egipto. El uso más conocido de este pigmento era el maquillaje de ojos, creencia propia de los egipcios de que les proporcionaba inmunidad ante enfermedades provocadas por demonios.



Figura 7. Crisocola.<sup>8</sup>

Era creído por los egipcios que pintarse los ojos de determinados colores los protegía de algunas fuerzas malignas tales como demonios. Se deduce a partir de restos arqueológicos hallados de crisocola que era usada en prácticas médicas, como para la cura del ectropion o las blefaritis

(según el papiro de Ebers) así como en rituales, ya que sabemos que se han hallado restos de este mineral en tumbas de niños como amuletos con usos protectores.<sup>9</sup>

### 3.4.2. GALENA

Comúnmente reconocida en el Antiguo Egipto por su uso como maquillaje de ojos, tiene una estructura cristalina conferida por el plomo y el sulfuro que la forman, lo cual le confiere su característico color negro oscuro brillante, así como la formulación química  $PbS$ .



Figura 8. Galena.<sup>10</sup>

Sobre las mismas fechas en las que se realizaron las exploraciones mineras de los distintos minerales bajo mira de estudio, fueron encontradas minas de galena en Gebel el-Zeit, localidad situada frente al río Nilo. Sus usos más comunes según los papiros médicos Ebers y Edwin-Smith eran como pintura de ojos y para tratar enfermedades oculares tales como el tracoma o heridas abiertas. Para su uso, era usual que los egipcios la picaran facilitando así su aplicación sobre la piel o los mismos ojos.<sup>11,12</sup>

### 3.4.3. MALAQUITA

La malaquita es el mineral sobre el que más información se aporta. Encontrada en distintas minas a lo largo de territorios como Sujna, Serabit el-Jadim o Wadi Maghara, tiene un color verdoso propio del carbonato de cobre de su composición química  $Cu^2(CO^3)(OH^2)$ .

Los antiguos egipcios la usaban para curar heridas infectadas en el cuerpo, o bien, ocularmente, como maquillaje protector sobre todo, dado que el verde significaba dar paso a la nueva vegetación, además de ser símbolo de fertilidad y resurrección.

En la actualidad, se ha demostrado experimentalmente que el principal componente de la malaquita (el cobre) tiene efectos inhibitorios sobre diversas especies de bacterias tales como el *Staphylococcus aureus* o la *Pseudomonas aeruginosa*.



**Figura 9. Malaquita.<sup>13</sup>**

Sobre el año 1800, en París, en pleno brote de la enfermedad del cólera, trabajadores en minas de cobre tenían inmunidad a la enfermedad, lo cual sugería un efecto antibacteriano en éste. Unas décadas más tarde, BAYER (grupo farmacéutico) desarrolló un compuesto de cobre orgánico que usó como principio activo para tratar la disentería, el cólera y la tuberculosis entre otras. Así bien, estudios han probado que el cobre inhibe especies de algunas bacterias, lo cual nos puede llevar a intuir que también la malaquita tenía estas propiedades antibacterianas y que los egipcios la usaban a consciencia de eso.<sup>14,15,16</sup>



#### 3.4.4. LAPISLÁZULI

De nuestros 4 minerales bajo estudio, el lapislázuli era el único que los egipcios tenían que ir a buscar más allá de su territorio. Lo importaban de la ciudad de Badajshan, Afghanistan. Su color azul oscuro se lo conferían los elementos de su composición química  $\text{Na}^6\text{Ca}^2(\text{Al}^6\text{Si}^6\text{O}^{24})(\text{SO}^4, \text{S}, \text{S}^2, \text{S}^3, \text{Cl}, \text{OH})^2$ .



Figura 10. Lapislázuli.<sup>17</sup>

Aunque en los papiros se nombra su uso en algunos remedios oculares, para tratar los síntomas de lagrimeo, por ejemplo, es mucho más reconocido por su uso en maquillaje. Esto puede ser debido a que el lapislázuli es insoluble en fluidos corporales, y por lo tanto su uso era limitado en cuanto a curas oculares.<sup>18,19,20</sup>

### 3.5. BACTERIAS

Para evaluar la eficacia de los minerales objeto del estudio, hemos escogido dos especies bacterianas distintas y comunes en infecciones oculares, siendo estas *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa*. La principal diferencia entre ambas es que la primera es una bacteria Gram + y la segunda Gram -, y, por lo tanto, hablaremos sobre las diferencias en su estructura que les confieren mayor o menor resistencia.

Para diferenciarlas, nos centraremos en la estructura de sus paredes celulares. Para empezar, es la región de la célula que contacta con el medio exteriormente y con la membrana plasmática internamente. Da forma y rigidez a la célula, la protege de los cambios de presión osmótica y, según su composición química, permite diferenciar entre las distintas especies bacterianas.

La pared bacteriana también es lo que nos permite distinguir entre bacterias Gram + y Gram -.

**A) GRAM +.** Constan de una sola capa gruesa y sin presentar rugosidades. Esta pared les ofrece una alta resistencia física a los cambios de presión osmótica, siendo formada en un 90% por peptidoglicanos y el resto por ácidos teicoicos (glicerol y ribitol en su gran mayoría).

**B) GRAM -.** Constan de una estructura pluriestratificada compleja pero más delgada que los Gram + lo cual les hace menos resistentes físicamente a los cambios de presión osmótica. Su pared es rugosa y está formada en un 5-20% por peptidoglicanos, aparte de tener una membrana externa con una bicapa lipídica de fosfolípidos, proteínas (porinas) y lipopolisacáridos (muchas veces asociados a endotoxinas).

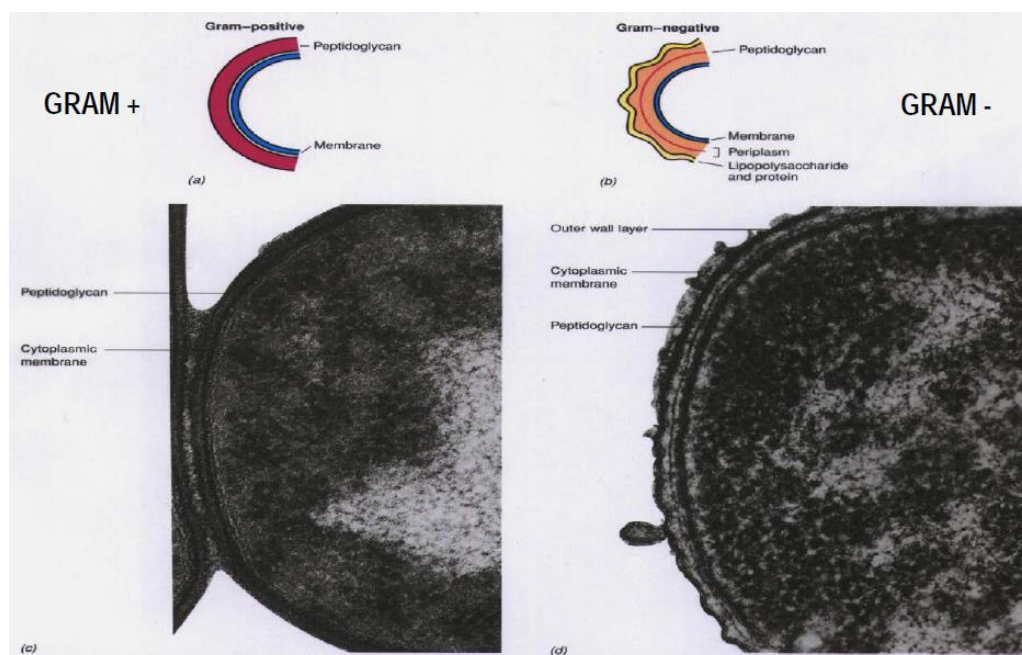


Figura 11. Imagen de las estructuras bacterianas Gram + y Gram -.<sup>21</sup>

	GRAM +	GRAM -
CAPAS	1	2
COMPOSICIÓN QUÍMICA	Peptidoglicanos (90%) Ác. teicoicos	Peptidoglicanos (5-20%) Fosfolípidos Lipopolisacáridos Proteínas
GROSOR	20-80 nm	8-11 nm
MEM. EXTERNA	No	Sí
ESPACIO PERIPLASMÁTICO	Corto	Extenso
PROTEINAS PORINAS	No	Sí
PERMEABILIDAD MOLECULAR	Mayor penetrabilidad	Menor penetrabilidad

Figura 12. Tabla representativa de las principales diferencias entre bacterias Gram + y Gram -.<sup>21</sup>

Además, la pared de las bacterias Gram - tiene un mecanismo de defensa contra agentes antibióticos que no tienen las Gram +. Gracias a la estructura química de esta, pueden realizar cambios en su bicapa lipídica cambiando sus proteínas porinas, alterando así su permeabilidad a las moléculas. Más concretamente, estas porinas son proteínas formadoras de canales de agua que regulan, desde la membrana externa la entrada de moléculas al interior. Si modifican su estructura, pues, pueden impedir o permitir la entrada de estas al espacio periplasmático.

También se conoce un mecanismo por el cual las bacterias Gram - liberan lipopolisacáridos de su membrana externa, dificultando así la entrada de moléculas del exterior y su paso al interior de éstas.

Al carecer de este recurso las bacterias Gram + pues, son más fáciles de penetrar, y por eso, antes de realizar el estudio sobre los minerales, pensamos que estos serán más efectivos sobre *Staphylococcus aureus* (Gram +), ya que tendrán mayor facilidad de penetración que con *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -).<sup>22</sup>

## 4. PARTE PRÁCTICA

Dado lo novedoso del estudio, nos gustaría decir que hemos desarrollado nuestra propia metodología de trabajo en el laboratorio, a partir de estudios previos con una cierta similitud.<sup>23</sup> Así bien, en un principio planteamos dividir el trabajo en dos partes; una primera que nos permitiera descartar los minerales no efectivos, usándolos sobre dos bacterias distintas, *Pseudomonas aeruginosa* (CECT 110) y *Staphylococcus epidermidis* (CECT 231), cualitativamente, y otra segunda, que cuantificara la efectividad de los minerales que nos dieran positivo en cuanto a propiedades antimicrobianas sobre estas mismas bacterias. Ambas proceden de la Colección Española de Cultivos Tipo (CECT) y son utilizadas para comprobar la eficacia de desinfectantes.

### 4.1. CUALITATIVA

#### 4.1.1. MATERIALES Y MÉTODO

Para calificar los distintos minerales de efectivos o no efectivos sobre los microorganismos a estudiar, *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus epidermidis*, usaremos el método de los pozos con tal de observar los halos de inhibición del crecimiento. Se decidió verter una cantidad determinada de las distintas disoluciones bacterianas en pozos generados sobre placas de TSA (agar de triptona y soja), que fueron realizados con boquillas de pipetas de 5 mm de diámetro. Este método, comparado con el de los discos, asegura una mayor sensibilidad a estas disoluciones y se recomienda según el Subcomité de Ensayos de Susceptibilidad de NCCLS, EEUU.<sup>24</sup> Aquellos minerales que generen un halo de inhibición alrededor de su pozo probarán su efectividad y pasaran a ser objeto de estudio en la parte cuantitativa.

En primer lugar, preparamos 1 L de solución salina (SS) (0'9 g en 100mL) y la repartimos entre distintas botellas esterilizadas en autoclave 121°C y 1 atmósfera de presión durante 20 minutos. Además, trabajaremos en todo momento cerca del Bunsen para tener mayor control de la esterilidad en todo el proceso. Realizamos los cultivos bacterianos de dos especies por agotamiento sobre placas de TSA.

También preparamos 10 placas con medio de cultivo TSA, dado que son necesarias 3 por bacteria (triplicados) y 4 para el control positivo que realizaremos con el antibiótico Tobrex (tobramicina 3 mg/ml) (duplicados). Además de su esterilización en autoclave, aseguraremos la esterilidad de estas placas sometiéndolas a luz UV 20' en la campana de flujo laminar antes de su uso.

Para las disoluciones de los distintos minerales, previamente picados con un mortero hasta conseguir un polvo homogéneo, usaremos 1g de mineral por cada 5 ml de SS. Con la ayuda de

una pipeta trasladamos la solución a botellas de PYREX con tapón de rosca y esterilizamos con autoclave durante 20 minutos a 121°C y atmósfera de presión.

Con la ayuda de un espectrofotómetro, preparamos un tubo de ensayo estéril con 10 ml de SS para cada especie y añadimos la bacteria correspondiente hasta conseguir una densidad óptica 0'19 a  $\lambda = 600$  nm con lo cual obtenemos una concentración bacteriana de  $[3 \times 10^8]$ . Tomamos de referencia 0 un tubo blanco de SS. Diluimos cada uno de éstos dos veces consecutivamente poniendo 1 ml de estas disoluciones en 9 ml de SS con la ayuda de una pipeta, consiguiendo así concentraciones de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus epidermidis* de  $[10^6]$ .

Una vez tenemos las soluciones hechas, agitamos y sembramos 100  $\mu$ l en cada placa: 3 para *Pseudomonas aeruginosa* y otras 3 de *Staphylococcus epidermidis*, y 4 más para el control (dos para cada bacteria). Extendemos con la ayuda de distintas asas de Drigalski para que no exista contaminación entre placas. Esperamos unos minutos para que se produzca la absorción y pasamos a la realización de los pozos donde posteriormente irán las soluciones minerales. Con la ayuda de unas boquillas estériles de pipetas de 5 mm de diámetro, agujereamos 5 veces las placas de manera estratégica para que no se nos solapen los distintos halos de inhibición, y retiramos el medio con unas pinzas metálicas de manera que formamos los pozos. Con una pipeta de 25 ml llenamos los distintos pozos, tal y como se ve en las siguientes imágenes:

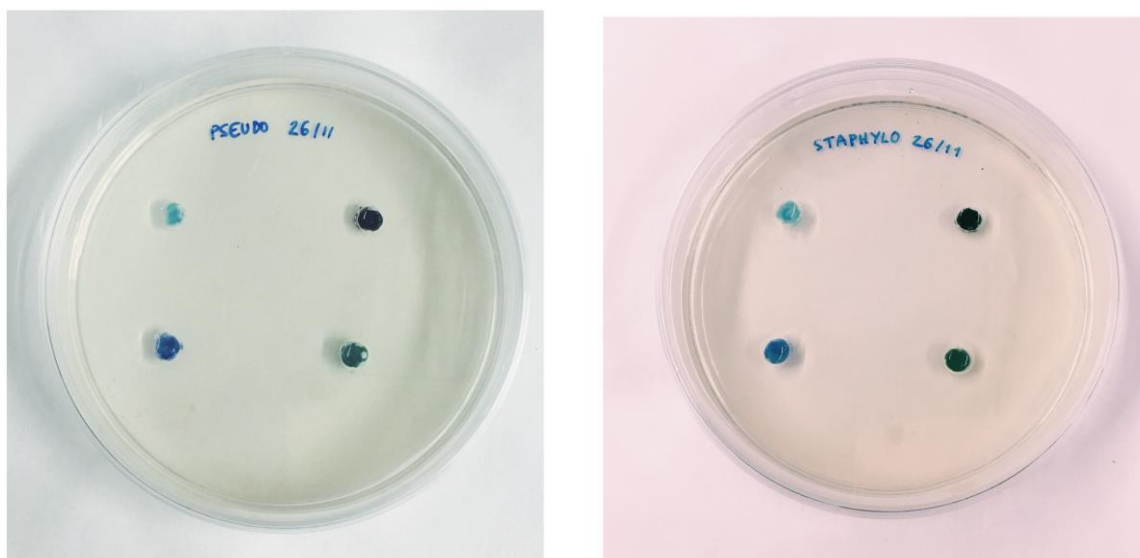


Figura 13. Cultivos bacterianos con pozos contenedores de soluciones minerales. Con sentido de las agujas del reloj: crisocola, galena (parte superior), malaquita, lapislázuli (parte inferior).

A su vez, se realizaron siembras después de todas las sesiones de laboratorio con las distintas soluciones salinas y minerales utilizados para asegurar que ninguno de ellos se hubiera contaminado durante el estudio.

Dejamos en la estufa 24 h a 37°C y observamos resultados el día siguiente.

#### 4.1.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

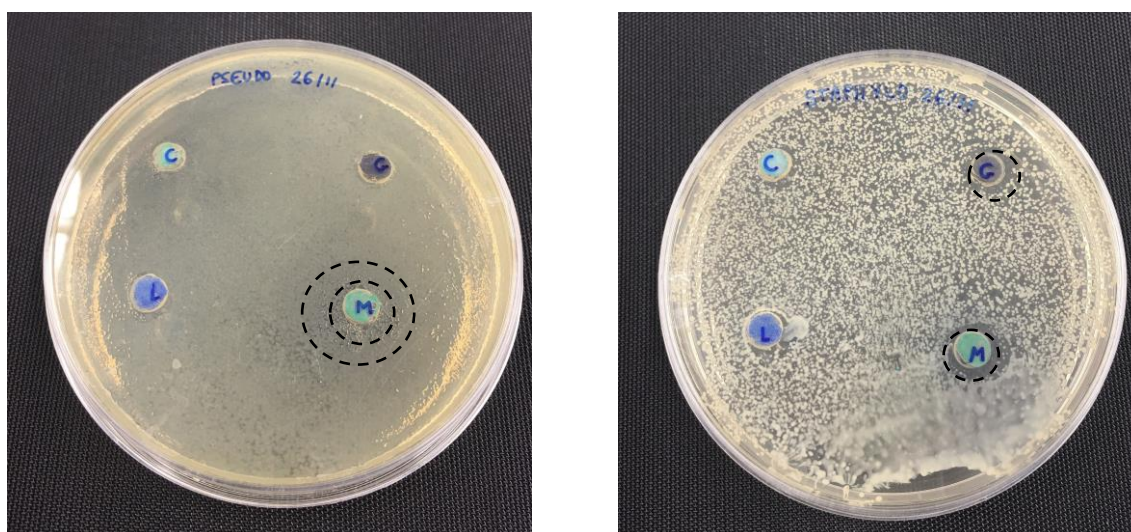
Se observan halos de inhibición para *Staphylococcus epidermidis* con los minerales malaquita y galena, mientras que para *Pseudomonas aeruginosa* solo la malaquita presenta un halo de inhibición, además de un pseudohalo que va disminuyendo gradualmente. Para crisocola y lapislázuli no se observa ninguna señal de halo de inhibición.

Por supuesto, para ambas bacterias el control con el antibiótico presenta un gran halo de inhibición, corroborando así la veracidad del experimento. Los resultados se ejemplifican en la tabla siguiente:

BACTERIA	MINERAL	DIÁMETRO DEL HALO DE INHIBICIÓN (mm)			MEDIA DEL HALO
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	Malaquita	10	11	10	10,33
	Galena	11	9	14	11,33
	Antibiótico	27	27	27	27
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Malaquita	9 (29)	7 (12)	9 (30)	8,33 (23,67)
	Antibiótico	24	22	23	23

Figura 14. Resultados de la parte cualitativa. Entre paréntesis, el diámetro de los pseudohalos presentados para la malaquita con *Pseudomonas aeruginosa*.





**Figura 15. Halos y pseudohalos de inhibición. En la izquierda, *Pseudomonas aeruginosa*. En la derecha, *Staphylococcus epidermidis*.**

Así bien, dados los halos de inhibición obtenidos, la malaquita muestra efectividad antimicrobiana sobre ambas especies bacterianas, mientras que la galena solo muestra efectividad frente *Staphylococcus epidermidis*. Se desconoce la causa de la presencia de pseudohalos entendidos como halos de inhibición del crecimiento más tenues que los verdaderos. Su presencia podría deberse a una pérdida paulatina de la efectividad antimicrobiana del mineral a medida que nos alejamos del centro del pozo cargado con el mismo.

Destacamos que los minerales son más efectivos sobre *Staphylococcus epidermidis* (Gram +) que sobre *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -), dada la obtención de halos de mayor diámetro y hacemos referencia al apartado 3.5. de nuestro trabajo, en el cual se detallan las propiedades de las bacterias Gram - así como sus mecanismos de defensa de los cuales las Gram + carecen y por tanto presentan mayor facilidad de penetración. Este resultado está de acuerdo con la hipótesis 2 del estudio.

Sabiendo la composición de los minerales de antemano, esperábamos efectividad para la malaquita y la crisocola, puesto que ambas contienen cobre, elemento químico el cual ya se ha probado su efectividad en diversos estudios (consultar apartado 3.4.3). Aún y así, la crisocola no ha resultado efectiva a pesar de tener cobre, mientras que la malaquita sí, y para nuestra sorpresa, la galena, formada por plomo y sulfuro, ha presentado actividad antimicrobiana. Posiblemente, la proporción de cobre en la malaquita es superior a la de la crisocola y por ello su efectividad antimicrobiana es menor. Por lo tanto, la hipótesis 1 del estudio solo se cumple parcialmente.

En el siguiente apartado, procederemos a cuantificar dicha actividad de ambos minerales y a hacer la comparativa de estudios similares con el nuestro.

## 4.2. CUANTITATIVA

### 4.2.1. MATERIALES Y MÉTODO

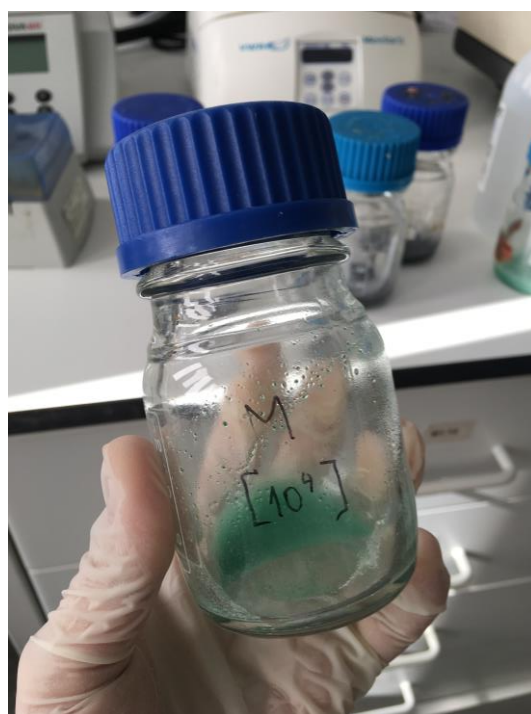
Para cuantificar la efectividad de la galena y la malaquita sobre las especies bacterianas, haremos cultivos de estas y añadiremos disoluciones de una concentración determinada de los minerales con tal hacer recuento de UFC (unidades formadoras de colonias). A menor cantidad de UFC en los cultivos, mayor poder inhibidor de los minerales.

Dejaremos preparados el día anterior cultivos de ambas especies bacterianas, así como todas las placas con medio TSA que vayamos a necesitar. Estimamos unas 36, dado que tenemos dos minerales, dos bacterias, tres concentraciones distintas y pretendemos hacer duplicados y además un control para asegurar la veracidad del experimento.

Al igual que en la primera parte, preparamos 1 l de solución salina (SS) (0'9 g en 100ml) y la repartimos entre distintas botellas esterilizadas en el autoclave. Siempre trabajando cerca del Bunsen, empezamos a preparar el que será nuestro banco de diluciones, con el objetivo de conseguir concentraciones de  $10^7$ - $10^4$  de nuestras especies bacterianas. Con la ayuda del espectrofotómetro, preparamos una concentración de  $10^8$  de *Pseudomonas aeruginosa* y *Staphylococcus epidermis* de la misma forma que se ha descrito en el apartado anterior y procedemos a realizar las diluciones. Para ello, a cada tubo estéril con 9 ml de SS le añadimos 1 ml de inóculo de la concentración anterior. Los tubos deben estar debidamente agitados con ayuda de un vórtex. Para nuestro estudio, usaremos las concentraciones de [ $10^6$ - $10^4$ ], puesto que creemos que nos darán resultados que podamos contabilizar.

Procedemos a esterilizar los minerales malaquita y galena con el autoclave, de nuevo, una vez picados con el mortero. En condiciones de asepsia, pasamos 1g de mineral a botellas PYREX esterilizadas también con auto clave. Usaremos 3 botellas por mineral dadas las 3 distintas concentraciones con las que trabajamos [ $10^6$ - $10^4$ ], además de 1 botella extra por mineral para realizar el control. Las marcamos con rotulador permanente para diferenciar los minerales y las distintas concentraciones de bacterias que pondremos y procedemos a verter 4ml de dichas concentraciones con la ayuda de distintas pipetas para que no se contaminen entre ellas. Con tal de que se cree una mezcla homogénea entre el conjunto bacteria-mineral, llevamos todas las botellas PYREX a un agitador rotatorio a 200 r.p.m. y 37°C durante 24 h. Se realizó de esta manera con tal de asegurar contacto completo del conjunto bacteria-mineral y para así evitar la sedimentación en el fondo de los recipientes.





**Figura 16.** Imágenes de los preparados mineral-bacteria con concentración  $[10^4]$  con *Staphylococcus epidermidis*.

Al día siguiente, recogeremos nuestras botellas y realizamos una siembra en placas de TSA ya preparadas y estériles. Pasamos con una pipeta 100  $\mu$ l de cada concentración a cada placa por duplicado además de los controles, todo esto para ambas especies bacterianas y minerales. Es sencillo diferenciar las placas con disoluciones de galena de las de malaquita, puesto que galena presenta un potente color negro mientras que malaquita se ve entre verdosa y turquesa.

Pasamos todas las placas a la estufa a 37°C y esperamos al día siguiente para observar resultados y realizar recuentos de colonias.

#### 4.2.2. RESULTADOS Y DISCUSIÓN

Con tal de hacer el recuento de UFC, tendremos en cuenta que serán consideradas aquellas placas que muestren entre 30 y 300 colonias.

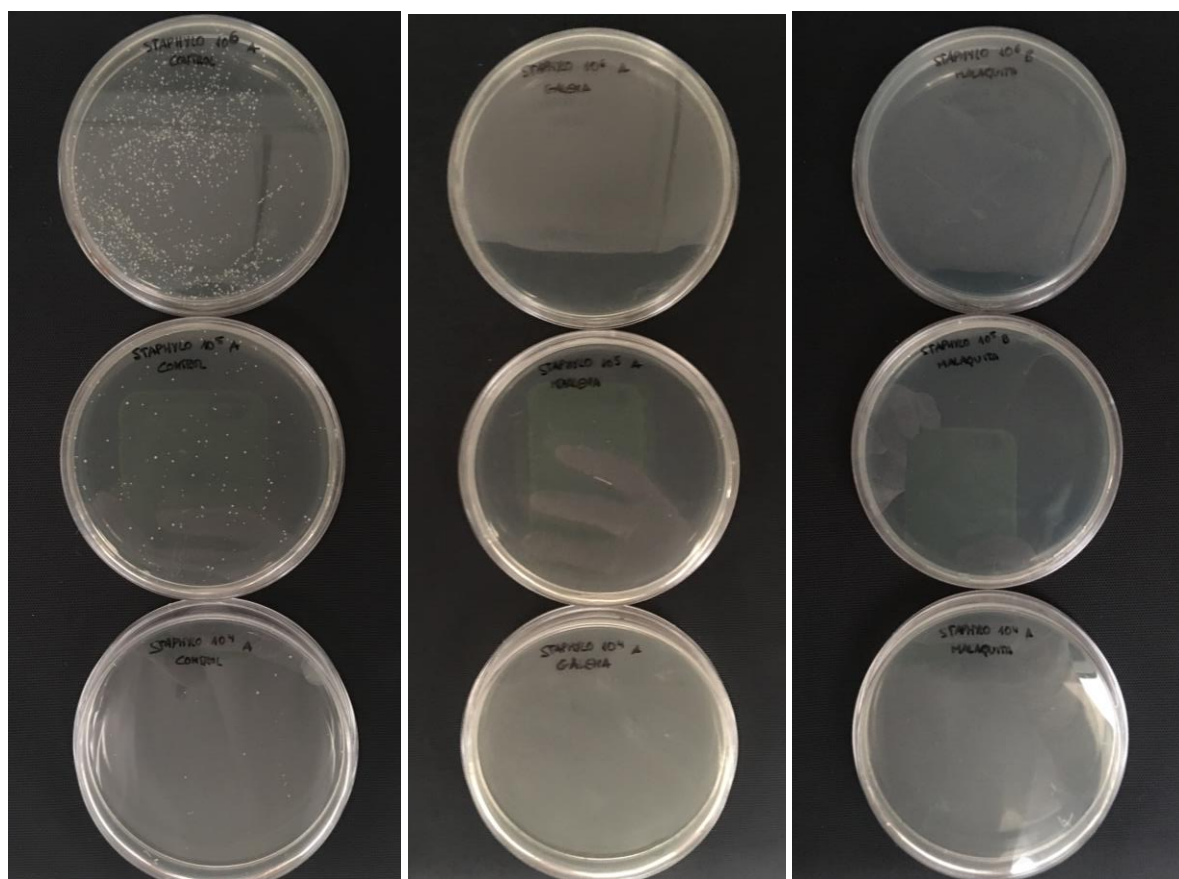


Figura 17. Imágenes tomadas en el laboratorio de los resultados de las placas control, galena y malaquita para *Staphylococcus epidermidis*, de izquierda a derecha respectivamente.

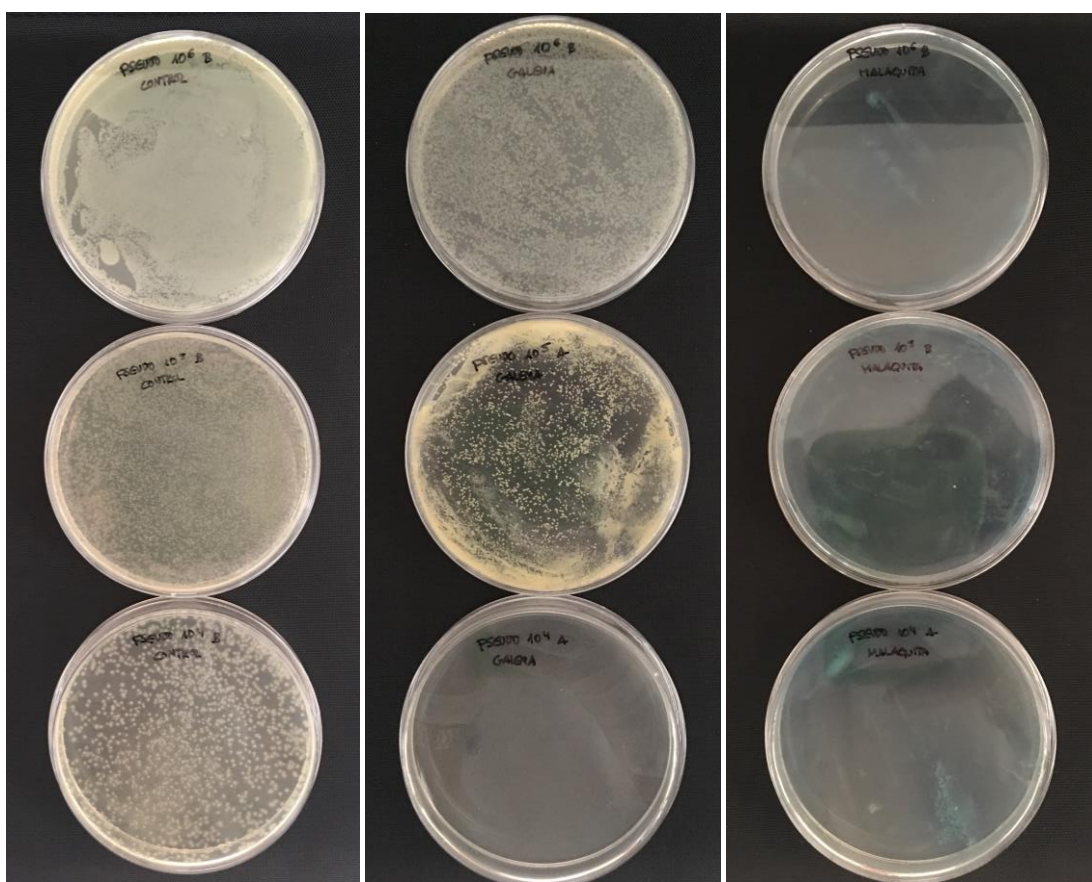


Figura 18. Imágenes tomadas en el laboratorio de los resultados de las placas control, galena y malaquita para *Pseudomonas aeruginosa*, de izquierda a derecha respectivamente.

En la siguiente tabla ejemplificamos el recuento:

ESPECIE BACTERIANA	SUSTRATO	[10 <sup>4</sup> ]		[10 <sup>5</sup> ]		[10 <sup>6</sup> ]		UFC/ml		
								[10 <sup>4</sup> ]	[10 <sup>5</sup> ]	[10 <sup>6</sup> ]
<i>Staphylococcus aureus</i>	MALAQUITA	0	0	0	0	0	0	-	-	-
	GALENA	0	0	0	0	0	0	-	-	-
	CONTROL	18	15	170	189	>300	>300	16 x 10 <sup>4</sup>	36 x 10 <sup>5</sup>	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MALAQUITA	0	0	0	0	0	0	-	-	-
	GALENA	0	0	>300	>300	>300	>300	-	-	-
	CONTROL	>300	>300	>300	>300	>300	>300	-	-	-

Figura 17. Tabla representativa del recuento de colonias.

De los resultados, sacamos en claro que los controles de *Staphylococcus epidermidis* están bien realizados ya que en todos ellos existe crecimiento bacteriano gradual (aumenta conforme subimos la concentración). La malaquita y la galena, ya visto anteriormente en la parte cualitativa, son efectivas contra *Staphylococcus epidermidis* aunque tan solo la malaquita es

efectiva contra *Pseudomonas aeruginosa*, tanto para las concentraciones más bajas como para las más altas. El problema aquí es que no podemos cuantificar porque sorprendentemente los controles siempre han dado valores muy altos de colonias y no se han podido contar. La efectividad de los minerales puede deberse a que al tener una mezcla homogénea entre mineral-bacteria, se inhiba el crecimiento total de ambas especies bacterianas dado el medio hostil en el que se encuentran. También puede decirse que, en vista de los resultados, la cantidad de mineral añadida a los inóculos ha sido muy alta y sería necesario reducirla para poder ver qué mineral es más efectivo, tal como puede observarse en la parte cualitativa previa.

Volvemos a destacar también que los minerales son más efectivos sobre *Staphylococcus epidermidis* (Gram +) que sobre *Pseudomonas aeruginosa* (Gram -), y hacemos referencia al apartado 3.5. de nuestro trabajo, en el cual se detallan las propiedades de las bacterias Gram - así como sus mecanismos de defensa de los cuales las Gram + carecen y por tanto presentan mayor facilidad de penetración.

Dada la efectividad de la malaquita sobre ambas especies bacterianas, y sabiendo que el Cu es su principal compuesto químico, hemos hecho una búsqueda sobre artículos científicos que traten el tema.

Varios estudios se han realizado ya. En uno en concreto que nos suscita interés<sup>25</sup>, se examinó dicha actividad usando nanopartículas de óxido de cobre sobre bacterias gram - tales como *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella paratyphi* y *Shigella*. Se escogieron estas bacterias porque están presentes en distintas patologías. Realizando unas pruebas cualitativas similares a las que nosotros planteamos con nuestros minerales, obtuvieron distintos halos de inhibición para los 4 cultivos bacterianos, demostrando así la efectividad de dichas partículas de CuO.

Así mismo, se realizó otro estudio<sup>26</sup> con nanopartículas de cobre donde se investigaron sus posibles propiedades antimicrobianas sobre las especies bacterianas *Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Salmonella choleraesuis*, y *Candida albicans*. Se realizó una parte cualitativa en la que se observaron los correspondientes halos de inhibición obtenidos por la acción del cobre y otra cuantitativa, al igual que en nuestro estudio. Al ser una investigación sobre la química de las nanopartículas, usaron métodos más complejos a los nuestros para obtener los resultados. Se realizaron espectroscopias de rayos X y microscopía electrónica conociendo los picos obtenidos por las distintas bacterias y los distintos compuestos químicos. Así bien, aunque no podamos comparar nuestros resultados con los suyos por la diferencia del método, en su estudio concluyen que:

- Se ha visto que por sí solo no es efectivo, dada su rápida oxidación, además de la facilidad de sus partículas de aglutinarse creando conglomerados, sino que necesita de la ayuda de un estabilizador químico (en este estudio usaron chitosán).

- Si bien un exceso de este metal en nuestro cuerpo puede ser nocivo dada su capacidad de generar radicales dañinos, en cantidades pequeñas puede ser tolerado y eliminado por diversos mecanismos de nuestro organismo, así como las heces o la bilis. Este proceso, una vez realizada la función antimicrobiana deseada de este sobre una infección por una bacteria hipotética en nuestros ojos, nos aseguraría que no quedaran restos del metal en nuestro organismo y por tanto evitaría su componente dañino.

Se sabe que los poros de las paredes de dichas bacterias tienen tamaños de micras, así bien, hipotéticamente, la actividad antimicrobiana de nanopartículas de cobre se debería al tamaño inferior (nanopartículas) al de los poros de las células bacterianas. El Cu, por lo tanto, se podría introducir con facilidad dentro de éstas y producir citotoxicidad al unirse a distintos enzimas celulares, inactivándolos y provocando su muerte.

Además, en el mismo estudio se realizaron unas pruebas para determinar si el Cu era citotóxico para las células eucariotas, obteniendo resultados negativos, lo cual es un indicio para pensar que estas nanopartículas sí podrían ser usadas en antibióticos, soluciones de LC y ser efectivas sin causar efectos adversos.

Nos planteamos, a partir de los resultados obtenidos, si podrían estos minerales formar parte de la composición de distintas soluciones de lentes de contacto, entre otras, pero sobre todo de qué manera podrían incluirse dado que no sabemos si suponen una cierta toxicidad para los tejidos del ojo humano. Parece ser que las nanopartículas con un estabilizador químico y a concentraciones no tóxicas para los tejidos oculares sí podrían ser efectivas, aunque harían falta estudios más exhaustivos. Este hecho avala la hipótesis 3 del estudio.

Así mismo realizamos una búsqueda sobre estudios de los posibles efectos antibacterianos del Pb dada la efectividad sobre *Staphylococcus epidermidis* de la galena, pero no encontramos dicha bibliografía.

En relación con el estudio realizado debemos indicar que se han cumplido todos los objetivos. Por último, a modo de crítica y basándonos en los resultados obtenidos, suponemos que hemos sobrepasado la concentración máxima inhibitoria, y que por eso los minerales han mostrado tal elevada efectividad. Además, sospechamos de un error en los cultivos de galena con *Pseudomonas aeruginosa*, dado que no parece lógico no poder realizar el recuento por un exceso de colonias con la concentración de  $10^5$  y con una dilución decimal más no haya crecido ninguna. Es más, la galena no había resultado efectiva con esta bacteria en la fase cualitativa, otro factor de sospecha sobre estos resultados.



De cara a próximos estudios sobre el tema, proponemos:

- Disminuir los gramos de sustrato (mineral) con tal de disminuir su efectividad y así facilitar la acción bacteriana. De esta manera nos aseguraríamos observar y recontar colonias y saber qué mineral es más efectivo.
- Aumentar la concentración bacteriana, lo cual disminuiría la efectividad del mineral con el fin de observar las posibles colonias formadoras y poder realizar el recuento.
- Dado que en todos los ensayos científicos revisados sobre la efectividad antimicrobiana del cobre se han usado nanopartículas de este, proponemos seguir con esta metodología dada la mejora en la obtención de resultados comparándolo a su uso en polvo.

## 5. CONCLUSIONES

1. No podemos afirmar que en el Antiguo Egipto se usaran dichos minerales a consciencia de que eran realmente efectivos, pero si estamos convencidos de que en muchos de los casos obtuvieron resultados positivos y por eso recopilaban su metodología en papiros médicos.
2. La malaquita presenta efectividad antibacteriana sobre *Staphylococcus epidermidis* y *Pseudomonas aeruginosa* inactivando o eliminando las dos poblaciones.
3. El cobre tiene claros efectos antimicrobianos al penetrar las barreras externas de ambas especies, independientemente de su carácter gram.
4. La galena presenta efectividad antibacteriana únicamente sobre *Staphylococcus epidermidis*, por lo que el plomo solo es tóxico para esta especie a las concentraciones utilizadas en el estudio.
5. Deben ser realizadas futuras investigaciones para determinar y cuantificar con mayor exactitud la efectividad antibacteriana de la galena y la malaquita, con tal de poder valorar así su posible uso en distintas soluciones de lentes de contacto, entre otras.

## 6. BIBLIOGRAFIA

### 6.1. LLIBRES I ARTICLES

1. Nunn, J. (1996). *Ancient Egyptian medicine*. London: British Museum Press, pp.97-106.
2. Andersen, S. (2009). The eye and its diseases in Ancient Egypt. *Acta Ophthalmologica Scandinavica*, 75(3), pp.338-344.
3. Juaneda-Magdalena, M. (2012) La importancia del ojo clínico en la praxis médica faraónica. Un rasgo de modernidad. *Medicina e historia*, nº 4. [Accessed 30 May 2019].
4. Vargas, A., López, M., Lillo, C. and Vargas, M. (2012). El papiro de Edwin Smith y su trascendencia médica y odontológica. *Revista médica de Chile*, 140(10), pp.1357-1362. [Accessed 30 May 2019].
5. Ledermann, W. (2016). Una mirada crítica sobre la medicina en el Antiguo Egipto. *Revista chilena de infectología*, 33(6), pp.675-679.
6. Güemez-Sandoval E. *El papiro Ebers y la oftalmología*. Medigraphic artemisa en linea, Rev. Mex Oftalmol; Marzo-Abril 2009; 83 (2): 123-125.
7. perfil, V. (2019). *James Henry Breasted*. [online] [Imagenesdeegipto.blogspot.com](http://imagenesdeegipto.blogspot.com/2013/10/james-henry-breasted.html). Available at: <http://imagenesdeegipto.blogspot.com/2013/10/james-henry-breasted.html> [Accessed 30 May 2019].
8. [Articulo.mercadolibre.com.mx](https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-616361047-crisocola-chilena-piedra-en-bruto-27kg-_JM). (2019). *Crisocola Chilena Piedra En Bruto 2.7kg - \$ 810.00*. [online] Available at: [https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-616361047-crisocola-chilena-piedra-en-bruto-27kg-\\_JM](https://articulo.mercadolibre.com.mx/MLM-616361047-crisocola-chilena-piedra-en-bruto-27kg-_JM) [Accessed 30 May 2019].
9. Bianucci, R., Mattutino, G., Lallo, R. and Torre, C. (2009). Identification of a chrysocola amulet in an Early Dynastic child mummy. *Journal of Archaeological Science*, 36(3), pp.592-595.
10. House of Whitley. (2019). *Galena with Calcite - House of Whitley*. [online] Available at: <https://houseofwhitley.com/product/galena-with-calcite/> [Accessed 30 May 2019].
11. Ungár, T., Martinetto, P., Ribárik, G., Dooryhée, E., Walter, P. and Anne, M. (2002). Revealing the powdering methods of black makeup in Ancient Egypt by fitting microstructure based Fourier coefficients to the whole x-ray diffraction profiles of galena. *Journal of Applied Physics*, 91(4), pp.2455-2465.



12. Martinetto, P., Anne, M., Dooryhee, E. and Walter, P. (2000). X-Ray Diffraction Line Broadening Analysis of Galena Powders: A Clue to Some Practices on Mineral Crushing in Ancient Egypt. *Materials Science Forum*, 321-324, pp.1062-1067.
13. 4X4, M. (2019). MALAQUITA CAJITA 4X4. [online] Reinomineral.com. Available at: <http://www.reinomineral.com/MALAQUITA-CAJITA-4X4> [Accessed 30 May 2019].
14. 06/01596 Adsorption characteristics of malachite green on activated carbon derived from rice husks produced by chemical-thermal process. (2006). *Fuel and Energy Abstracts*, 47(4), p.247.
15. Kim, H., You, J., Gomez-Flores, A., Solongo, S., Hwang, G., Zhao, H., Lee, B. and Choi, J. (2019). Malachite flotation using carbon black nanoparticles as collectors: Negative impact of suspended nanoparticle aggregates. *Minerals Engineering*, 137, pp.19-26.
16. Susarla, S., Mulliken, J., Kaban, L., Manson, P. and Dodson, T. (2017). The colourful history of malachite green: from ancient Egypt to modern surgery. *International Journal of Oral and Maxillofacial Surgery*, 46(3), pp.401-403.
17. Significado del Lapislázuli. (s.f.). Available at: <https://significadodelaspiedras.com/significado-del-lapislazuli/> [Accessed 30 May 2019].
18. Calligaro, T., Coquinot, Y., Pichon, L., Pierrat-Bonnefois, G., de Campos, P., Re, A. and Angelici, D. (2014). Characterization of the lapis lazuli from the Egyptian treasure of Tôd and its alteration using external  $\mu$ -PIXE and  $\mu$ -IBIL. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research Section B: Beam Interactions with Materials and Atoms*, 318, pp.139-144.
19. González-Tablas Nieto, Javier. La explotación de recursos en los márgenes del valle del Nilo durante el Reino Medio: La dinastía XII. *El Futuro del Pasado*, nº 1, 2010, pp. 237-248.
20. Del Cerro Linares, Carmen. "Azul para los dioses". *De oriente a occidente: La búsqueda del Lapislázuli durante el III milenio A.C.* Revista sobre Oriente Próximo y Egipto en la antigüedad, ISSN 1575-3492, Nº. 13, 2011, págs. 71-103.
21. Apuntes Microbiología general y ocular Facultad Óptica y Optometría. Tema 5. La célula bacteriana I. [Accessed 30 May 2019].
22. Tafur, J. D., Torres, J. A., & Villegas, M. V. (2011). Mecanismos de resistencia a los antibióticos en bacterias Gram negativas. *Infectio*, 12(3).
23. ESTEVE GAVIÑA, A. Ì. N. A. (2015). *Estudio de la actividad antimicrobiana de micropartículas de sílice sobre Escherichia coli* (Doctoral dissertation).

24. Ramirez, L. S., & Castaño, D. M. (2009). Metodologías para evaluar in vitro la actividad antibacteriana de compuestos de origen vegetal. *Scientia et technica*, 15(42), 263-268.
25. Mahapatra, O., Bhagat, M., Gopalakrishnan, C., & Arunachalam, K. D. (2008). Ultrafine dispersed CuO nanoparticles and their antibacterial activity. *Journal of Experimental Nanoscience*, 3(3), 185-193.
26. Usman, M. S., El Zowalaty, M. E., Shameli, K., Zainuddin, N., Salama, M., & Ibrahim, N. A. (2013). Synthesis, characterization, and antimicrobial properties of copper nanoparticles. *International journal of nanomedicine*, 8, 4467.